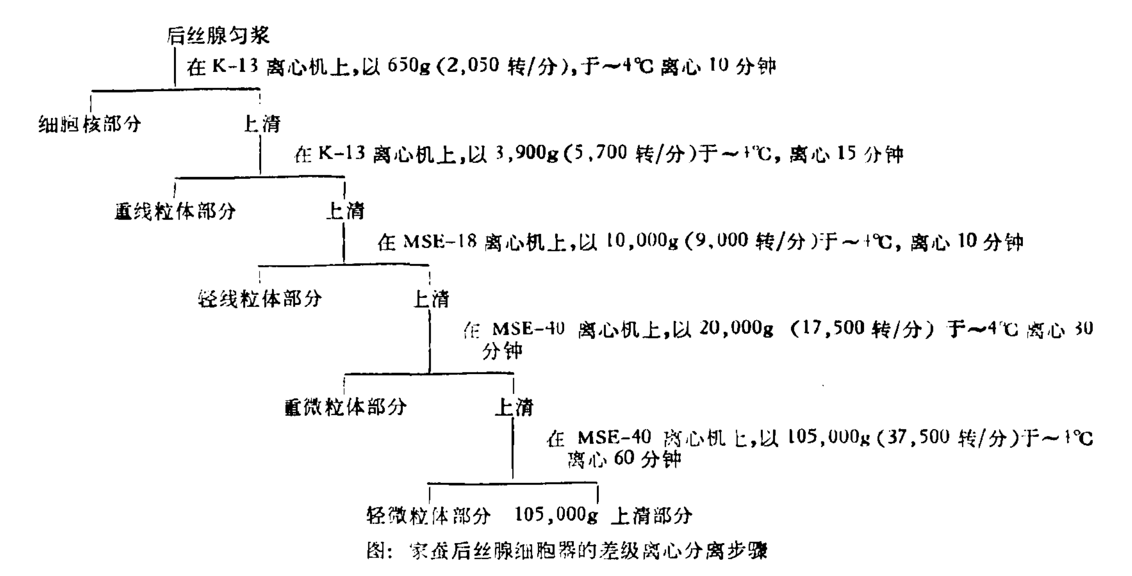
家蚕后丝腺亚细胞组分中核酸和蛋白质的分布

夏邦颖　王宗舜　郭 郛
（中国科学院动物研究所）

丝心蛋白是家蚕后丝腺的分泌产物。在家蚕五龄早期，后丝腺细胞中迅速形成丝心蛋白合成所必需的一些亚细胞结构，在后丝腺细胞质中粗糙内质网迅速增多，平滑内质网迅速形成空泡状或管状。而且生化测定表明，在五龄早期后丝腺中 DNA、RNA、蛋白质和脂肪的含量皆迅速增加，这些为在五龄后期丝心朊的合成，即为丝心蛋白信息的转录和翻译，提供亚细胞结构和生化代谢的物质基础（Tashiro 等 1968; 赤井弘 1973）。因此有必要对家蚕后丝腺亚细胞组分如细胞核、线粒体、微粒体和 105,000g 上清液中核酸和蛋白质代谢进行研究。本文初步建立一种分离家蚕后丝腺亚细胞组分的差级离心方法，并测定各亚细胞组分中核酸和蛋白质的含量。

实验用家蚕品种系东肥×华合。

后丝腺细胞器的分离步骤，系参考 Shibko 等人 (1967)、Shigematsu 等人 (1966) 和 Tata (1972) 的实验方法来设计的。收集一定数量的雄性家蚕五龄第二天的后丝腺，放在预冷的称量瓶中，称重后用剪刀剪碎，放在预冷的研钵中，加 0.3*M* 蔗糖—tris 缓冲液（其中含 0.3*M* 蔗糖、0.025 *M* tris、0.025*M* KCl、0.005*M* $MgCl_2$、pH7.8）进行研磨，移入玻璃匀浆器中匀浆，然后经双层纱布过滤，由此所得的匀浆，利用差级离心方法，进行细胞器的分离，差级离心步骤和条件，如图所示：



图：家蚕后丝腺细胞器的差级离心分离步骤

首先在 K-13 离心机上以 650g (2,050 转/分)于～4℃ 离心 10 分钟，收集细胞核部分；然后将上清在 K-13 离心机上，以 3,900g (5,700 转/分)于同样温度条件下(以下皆同)，离心 15 分钟，收集重线粒体部分；再将所得上清在 MSE-18 离心机上，以 10,000g(9,000 转/分)离心 10 分钟，收集轻线粒体部分；

本文于 1977 年 8 月收到。

将所得之上清在 MSE-40 离心机上以 20,000g（17,500 转/分）离心 30 分钟，收集重微粒体部分；最后将所得上清在 MSE-40 离心机上以 105,000g（37,500 转/分）离心 60 分钟，收集轻微粒体部分，并得到 105,000g 上清部分。

将差级离心分离所得之细胞核部分，重线粒体部分，轻线粒体部分，重微粒体部分和轻微粒体部分，皆经手动匀浆，使之重悬于 0.3*M* 蔗糖—Tris 缓冲液中，连同 105,000g 上清部分，分别取样，以进行核酸和蛋白质的分离和定量测定。提取核酸和蛋白质的过程，参见作者（1974）方法，惟 DNA 和 RNA 用 0.3N 过氯酸于 90℃ 水浴中提取 20 分钟，同时提取出来，再用 0.3N 过氯酸洗沉淀一次，常规离心，合并二次提取液。

DNA 测定：系用二苯胺法测定，用小牛胸腺 DNA 作标准样品。

RNA 测定：系用苔黑酚法测定，用酵母 RNA 作标准样品。

蛋白质测定：系用双缩脲法测定，用牛血清白蛋白作标准样品。

实验中我们利用差级离心法，将五龄第二天家蚕后丝腺匀浆后的亚细胞组分分成细胞核部分，重线粒体部分，轻线粒体部分，重微粒体部分，轻微粒体部分和 105,000g 上清部分。从表 1 中可以看出，家蚕五龄第二天后丝腺细胞中的 DNA 含量主要集中于细胞核中，半自主性细胞器——线粒体中的环状 DNA 含量尚可测出，线粒体 DNA 约占后丝腺细胞中 DNA 总量的 16%。家蚕五龄第二天，后丝腺细胞中的 RNA，主要存在于微粒体部分和细胞核部分，在 105,000g 上清部分中也有一定分布。轻微粒体部分中的 RNA，主要代表了游离核糖体的 r-RNA，重微粒体部分中的 RNA，主要代表结合于内质网上的核糖体的 r-RNA，还包括与之相连的少量 m-RNA。105,000g 上清部分中的 RNA 则应是 t-RNA 的含量。我们注意到，重线粒体部分和轻线粒体部分中的 RNA 含量共约占总 RNA 量的 13%，表明后丝腺的线粒体 RNA 的合成很旺盛。

表 1　家蚕五龄第二天后丝腺亚细胞组分中核酸和蛋白质的分布

类　别	细胞核部分	重线粒体	轻线粒体	(总线粒体)	重微粒体	轻微粒体	(总微粒体)	105,000g 上清
DNA，毫克/头	0.132	0.018	0.008	(0.026)				
RNA，毫克/头	0.488	0.099	0.097	(0.196)	0.171	0.433	(0.604)	0.173
蛋白质，毫克/头	1.11	0.239	0.228	(0.467)	0.245	0.438	(0.683)	1.867
DNA，毫克/克鲜重	1.210	0.162	0.075	(0.237)				
RNA，毫克/克鲜重	4.47	0.90	0.89	(1.79)	1.56	3.97	(5.53)	1.58
蛋白质，毫克/克鲜重	10.56	2.19	2.09	(4.28)	2.24	4.01	(6.25)	17.10

测定后丝腺亚细胞组分中蛋白质的分布，表明蛋白质主要集中于 105,000g 上清部分，经 105,000g 离心后的上清部分中的蛋白质，反映了包括 pH5 酶（氨基酸激活酶）在内的可溶性蛋白质的含量，约占后丝腺细胞中总蛋白量的 45%；其次细胞核部分的蛋白质含量也较多，约占后丝腺细胞中总蛋白量的 30%；微粒体部分中约占 15%；线粒体部分中约占 10% 左右。

表 2　大白鼠肝亚细胞组分中核酸和蛋白质含量的分布

类　别	细胞核部分	重线粒体部分	轻线粒体部分	重微粒体部分	轻微粒体部分	105,000g 上清部分
DNA　毫克/克	3.20	0.114	0.008			
RNA　毫克/克	4.08	0.967	0.604	1.20	0.980	0.786
蛋白质　毫克/克	82.6	15.4	8.0	13.1	5.1	70.0

从上述分析可以概括地了解家蚕五龄第二天后丝腺细胞内细胞器形成过程中核酸和蛋白质在亚细胞组分中的含量分布。利用上述方法可进一步研究家蚕丝腺合成丝蛋白过程中核酸和蛋白质的代谢变化规律(夏邦颖1978),并为进一步研究细胞器及其中的核酸大分子提供基础资料,如我们已研究了家蚕后丝腺中的多聚核糖体, mRNA 和 rRNA, 以及家蚕生殖腺中的 DNA 等。在预备性实验中曾用鼠肝为材料,进行上述亚细胞组分的分离和分析工作,也得到较好结果(见表2),可供参考。

参 考 文 献

夏邦颖 郭 郛 1974 东亚飞蝗生殖的研究: 雌蝗成虫卵巢发育过程中核酸和蛋白质的代谢与激素调节。昆虫学报**17** (2): 148—60。
夏邦颖 1978 保幼激素增产蚕丝作用原理研究进展。科学通报 **11**: 700—3。
夏邦颖 郭 郛 1978 家蚕蛹生殖腺中 DNA 的特性。昆虫学报 **21** (2): 127—31。
夏邦颖 郭 郛 1979 家蚕生殖腺和丝腺中的 rRNA。生物化学与生物物理学报 **11** (2): 105—12。
夏邦颖 郭 郛 1979 家蚕后丝腺中 mRNA 的制备。科学通报 **24**(16): 756—7。
夏邦颖 郭 郛 1979 家蚕蛹睾丸 DNA 的电镜观察及其长度测量。生物化学与生物物理学报 **11**(4)。
赤井弘 1973 绢丝腺细胞の超微形态と机能细胞。**5** (4): 2—17。

Shibko, S; et al. 1967 A method for sequential quantitative separation and determination of protein RNA, DNA lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction *Anal. Biochem* **19**(3): 514—28.
Shigematsu, H & H. O. Takeshita 1966 Distribution of fiboin in subcellular fractions of posterior silkgland of the silkworm, *Bombyx mori*. L *J. Biochem.* **59**(3): 223—9.
Tata, J. R. 1972 Preparation and properties of microsomal and submicrosomal fractions from secretory and nonsecretory tissues in "Subcellular Components" ed. by Biebue, G. D. p. 185—213.
Tashiro, Y. T. et al. 1968 Studies on the posterior silkglands of the silkworm, *Bombyx mori* I. Growth of posterior silkgland cells and biosynthsis of fibroin during the fifth larval instar *J. Cell Biology* **38**(3): 574—88.

THE DISTRIBUTION OF NUCLEIC ACID AND PROTEIN CONTENTS IN THE SUBCELLULAR FRACTIONS OF POSTERIOR SILKGLAND OF BOMBYX MORI

Hsia Pang-ying, Wang Chung-shun, Quo Fu
(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)